

# 气相色谱法测定饲料添加剂中维生素 K<sub>3</sub> 和 E 的含量

郭茂章, 郭新东, 吴玉銮

广州市产品质量监督检验所, 广东 广州 510110

中图分类号]S816.32

文献标识码]C

文章编号]1005-8613(2005)06-0041-02

复合多维添加剂或预混饲料含有较多维生素 E 和维生素 K<sub>3</sub>, 其中由于维生素 E 易被氧化, 主要以其醋酸酯形式存在。对维生素 E 醋酸酯含量测定, 通常采用高效液相法, 或是比色法、荧光法等, 样品均需经皂化、提取、洗涤、浓缩等前处理, 操作繁琐, 时间长, 在生产过程中不能及时监测产品的质量, 使生产与检测脱节。我们参考有关文献 [林海丹等, 1996; 王玉杰等, 2004], 采用不经皂化而直接提取维生素 E 醋酸酯, 同时测定维生素 K<sub>3</sub> 的气相色谱法。本研究选用 0.5%OV-17+1.5%OV-225 填充柱, 以胺菊酯为内标物, 测定饲料中维生素 K<sub>3</sub> 和维生素 E 的含量, 方法简便快速, 结果准确可靠。

## 1 材料与方

### 1.1 仪器设备

日本岛津 GC-14B 气相色谱仪、氢火焰离子化检测器 (FID)、SALAN-G ID 超声波清洗仪。

### 1.2 试剂与溶液

1.2.1 维生素 E 醋酸酯 (美国 Sigma 公司); 维生素 K<sub>3</sub> (美国 Sigma 公司); 胺菊酯 (国家标物中心); 异丙醇 (分析纯)。

1.2.2 维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 标准储备液: 准确称取维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 固体标准品各 10.0mg 分别用异丙醇溶解并定容至 10ml。此二种标准储备液维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 含量各为 1.0mg/ml (4℃可存 1 周)。

1.2.3 内标溶液的制备: 精密称取胺菊酯 20mg 置于 100ml 容量瓶中, 用异丙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为内标液。

1.2.4 维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 混合标准工作液: 分别精密量取标准储备液 0.05ml、0.10ml、0.3ml、1.0ml、2.0ml 置于 10ml 棕色容量瓶中, 加入

内标溶液 1ml 分别加入不同体积的异丙醇使终体积为 10ml 摇匀。 (当天配制当天使用)。

### 1.3 色谱条件

玻璃填充柱 0.5m×3.2mm 玻璃柱, 0.5%OV-17+1.5%OV-225/Chromosorb WAW DMCS 粒度 80~100 目; 汽化室温度 250℃, 检测器温度为 260℃, 柱温: 110℃ (3min)→30℃ (4min)→240℃ (40min); 氮气、氢气、空气的流速分别为 40ml/min, 40ml/min, 400ml/min 进样量: 2μL。

### 1.4 样品处理

称取饲料样品约 2g 置于 25ml 棕色容量瓶中, 加入 10ml 异丙醇, 超声波振荡 30min, 加入 2.5ml 内标溶液, 用异丙醇定容至 25ml 充分摇匀, 静置分层后, 吸取上清液进样分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 线性关系

在 1.3 的色谱条件下, 分别进样 2μl 测定峰面积, 记录色谱图 (见图 1)。对照品峰面积与内标峰面积之比为纵坐标 y, 以维生素的质量 (μg) 为横坐标 x, 绘制标准曲线, 维生素 K<sub>3</sub> 回归方程为  $y = 0.1042x - 0.0183$ ,  $r = 0.9996$ ; 维生素 E 醋酸酯回归方程为  $y = 0.0972x - 0.0263$ ,  $r = 0.9984$ 。

表 1 样品测试结果与回收率 (n=5) (mg/kg)

样品	本法 测定值	HPLC 测定值	RSD %	加入量	回收率 %
维生素 K <sub>3</sub>	215.8	213.2	1.6	200	97.3
维生素 E 醋酸酯	672.3	670.5	2.0	600	96.5

### 2.2 重复性试验

称取 2g 样品按 1.4 中的方法处理 (共 6 份), 从中取 2μl 注入色谱仪, 记录色谱图 (见图 1)。维生素 K<sub>3</sub> 平均含量为 215.1mg/kg, 相对标准偏差为 0.98% (n=6); 维生素 E 醋酸酯平均含量为 672.2mg/kg, 相对标准偏差为 1.12% (n=6)。

### 2.3 样品分析结果和回收率试验

收稿日期]2005-10-03

作者简介]郭茂章, 男, 主要从事食品中各类成分的检测研究。

# 氧化—光度法测定饲料铬酵母的铬含量

石秀侠, 程茂基, 赵彩艳, 汤海鸥

安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230000

中图分类号]S816.32

文献标识码]C

文章编号]1005-8613(2005)06-0042-02

**摘要** 本文研究饲料铬酵母中铬含量的测定。在 pH 1.2 的强酸条件下, 显色剂二苯氨基脲与六价铬离子生成紫红色络合物, 该络合物的最大吸收波长为 540nm, 且颜色在 15~30分钟稳定。

**关键词** 氧化光度法 饲料铬酵母 二苯氨基脲 测定

铬是人体及动物必需的微量元素之一, 铬是葡萄糖耐受因子 (glucose tolerance factor, GTF) 必要活性成分, 资料表明: 酵母铬中含有丰富的三价铬 (Cr<sup>3+</sup>), 并且多以 GTF 的形式存在。GTF 是一种能维持动物血液中葡萄糖水平正常的物质, GTF 在动物营养中的作用在于它能增加动物的葡萄糖耐受量和提高胰岛素的活性功能, 促进胰岛素与细胞膜受体结合, 进而刺激动物机体组织对葡萄糖的吸收。铬亦可保护正常胰岛 B 细胞对葡萄糖之敏感度及对胰岛素的制造有所裨益。酵母通过发酵作用

将无机铬转化为有机铬, 且 80.9% 的铬离子通过细胞壁并与细胞质中的大分子物质结合。酵母可能是通过这种方式来降低它生长环境中铬离子的毒性。本文研究了一种饲料铬酵母中铬含量的测定方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

1.1.1 仪器。722 分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司)、马佛炉、电子天平。

1.1.2 溶液与试剂。铬标准溶液: 精密称取 120°C 干燥至恒重的重铬酸钾 0.1415g 溶于蒸馏水中, 定容至 500ml 所得溶液浓度是 100μg/ml 使用时稀释成 2μg/ml 的铬标准液。

二苯氨基脲溶液, 称取 0.5g 分析纯二苯氨基脲溶于 95% 的乙醇中, 定容为 100ml 保存于冰箱中。

1.1.3 另有乙醇、高锰酸钾、硫酸是分析纯, 无水碳酸钠是化学纯。

### 1.2 测定原理

酵母铬经炭化、灰化后, 其有机物被破坏, 灰分

收稿日期]2005-10-06

作者简介]石秀侠 (1979-), 女, 安徽农业大学动物科学院动物营养专业硕士研究生。

称取 2g 样品按 1.4 中的方法处理, 并在 1.3 中的色谱条件下进行测定。同时用高效液相色谱法 HPLC 作对照试验。

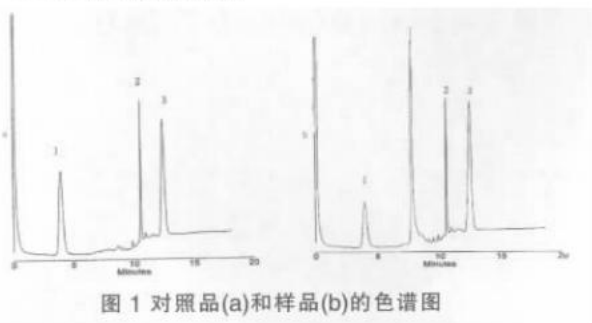


图 1 对照品(a)和样品(b)的色谱图

1. 维生素 K<sub>3</sub> 2. 内标物 3. 维生素 E 醋酸酯

### 2.4 稳定性试验

取“2.2”节已测定的样品溶液, 放置 48h 后, 维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 与内标峰面积之

比为 3.850 和 1.686, 此值与 48h 前的 3.802 和 1.713 值相对照无明显变化。

## 3 结语

考察了多种填料的填充柱, 包括 OV-17、OV-210、OV-101 等均不能很好地排除杂质峰的干扰, 采用 0.5%OV-17+1.5%OV-225 填充柱, 以程序升温的方式可以得到好的色谱峰。

由于维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 的极性相差较大, 用正己烷或甲醇都不能很好地同时溶解两种维生素, 因而选择异丙醇作为提取液, 采用常温超声的方法提取样品中的维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub>, 极大地缩短了样品的预处理时间。实验结果表明, 该方法重复性好, 回收率高, 检测样品中维生素 E 醋酸酯和维生素 K<sub>3</sub> 浓度均为 125~2500 mg/kg 能满足分析的要求。